농약과학회지 제14권 제4호 (2010)
The Korean Journal of Pesticide Science Vol. 14, No. 4, pp. 490~498

급 단 보

살균제 Isotianil의 독성평가와 일일섭취허용량 설정

정미혜* · 홍순성 · 박경훈 · 박재읍 · 홍무기 · 임무혁[1] · 김용범[2] · 한범석[3] · 한증술[4]

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 농자재평가과, [1]식품의약품안전청 식품기준과
[2]한국화학연구원 안전성평가연구소, [3]호서대학교 GLP센터, [4]경북대학교 생태환경보전전공

(2010년 5월 9일 접수, 2010년 9월 27일 수리)

Toxicity Assessment and Establishment of Acceptable Daily Intake of Fungicide Isotianil

Mihye Jeong*, Soon Sung Hong, Kyung-Hun Park, Jae-Eup Park, Moo-Ki Hong, Moo-Hyeog Im[1], Young-Bum Kim[2], Bum Seok Han[3] and Jeung-Sul Han[4]

Agro-Material Safety Evaluating Division, Department of Agro-Food Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea, [1]Korea food and drug administration, Seoul 122-704, Korea, [2]Korea Institute of Toxicology, Daejeon 305-600, Korea, [3]Hoseo University GLP center, Asan 336-795, Korea, [4]Department of Ecological Environment Conservation, Kyungpook National University, Sangju 441-440, Korea

Abstract

Isotianil is a fungicide which has prevention effects against rice blast disease. In order to register this new pesticide, the series of toxicity data on animal testing were reviewed to evaluate its hazards to consumers and to determine its acceptable daily intake. Isotianil was almost excreted by urine and feces. It has low acute oral toxicity while has no skin toxicity and ocular irritation. Its skin sensitization was evaluated as slight. Genotoxicity of parent compound and metabolite was negligible. Chronic toxicity tests on rats and dogs showed changes of hematology, clinical biochemistry and liver weight. It had no reproductive and teratogenic effects. The estimation of Acceptable Daily Intake(ADI) is based on the lowest no-observed adverse effect level (NOAEL). The lowest NOAEL of 2.83 mg/kg bw/day was found in the twelve-months rats study. The NOAEL was based on increased liver weight and treatment-related effect on clinica chemistry finding at the nest higher dose level of 2.83 mg/kg bw/day. Therefore, it is considered appropriated to apply an uncertainty factor of 100 to the NOAEL 2.83 mg/kg bw/day from the rat study, resulting in an ADI of 0.028 mg/kg bw/day.

Key words ADI, Fungicide, NOAEL, Pesticide, Safety factor

서 론

Isotianil은 벼 도열병에 효과가 우수한 약제의 개발을 위하여 Bayer사와 Sumitomo사가 BYF104 및 S-2310이라는 코드명으로 공동개발한 살균제로 thiazdiazole carboxamide 계통의 *Pyricularia*계 곰팡이에 효과적인 약제다.

국내에서 신규 농약을 등록하기 위해서는 농약관리법에 따라 이화학성적서, 독성성적서, 부성분의 종류와 그 함유량, 주성분과 부성분의 분석에 필요한 자료를 등록신청자가 제출하여야 하며, 본 논문은 제출된 독성성적서를 평가하여 일일섭취허용량을 설정하였다. 일일섭취허용량은 해당 농약을 평생 동안 매일 섭취하여도 인체에 유해하지 않은 농약섭취량으로 우리나라는 2002년부터 신규로 등록하는 농약을 대상

*연락저자 : Tel. +82-31-290-0593, Fax. +82-31-290-0508
E-mail: mhjeong@korea.kr

으로 정하여왔으며, 2006년부터는 농약독성을 평가하는 국립농업과학원에서 독성시험성적서를 평가하고 식품의약품안전청, 관련전문 연구기관 및 대학교수로 구성된 일일섭취허용량 전문가 협의회에서 협의를 거쳐 일일섭취허용량을 설정하여 그 내용을 국내 잔류허용기준설정기관인 식품의약품안전청에 통보하여 활용하고 있다.

본 연구에서는 우리나라에 아이소티아닐을 신규농약으로 등록하기 위하여 등록신청자가 신청한 인축에 대한 독성시험성적서를 평가하고 일일섭취허용량을 설정하여 안전한 농약의 관리에 활용하고자 한다.

재료 및 방법

아이소티아닐의 독성시험성적서평가

아이소티아닐을 농약으로 등록하기 위하여 등록신청자가 제출한 인축독성시험 성적서를 Table 1에 나타내었다. 아이소티아닐의 랫드 급성독성시험 3종, 피부 및 안점막자극성시험, 피부감작성시험, 13주 아만성독성시험 2종, 28일 아만성독성 1종, 만성독성 2종, 발암성 2종, 번식독성 1종, 기형독성 2종, 유전독성 3종, 총 19종의 시험성적서를 농촌진흥청 농약의 등록기준에 따라 평가하였다(농촌진흥청, 2009).

동물체내대사시험

동물체내대사는 주요 배설경로, 배설시간, 조직내 약물 분포, 대사물 동정, 대사물 함량 및 대사경로 등을 평가하였다.

급성독성시험

급성경구, 급성경피, 급성흡입독성은 반수치량이나 반수치사농도 등 시험물질의 치사율, 암수간 독성반응차이, 독성영향의 기간을 검토하였고 피부 및 안점막에 대한 자극성 정도와 피부감작성에 대한 감작성 정도를 평가하였다.

유전독성시험

유전독성시험은 시험관내시험과 실험동물을 이용한 시험성적서를 검토하여 유전독성유무를 판정하였으며, 양성이 아니라고 판단되는 경우에도 시험물질투여용량이 충분히 높은지, 시험기간에 시험물질 농도가 적절히 유지되었는지 등을 검토하였다.

반복투여독성시험

반복투여경구독성은 단기독성, 장기독성, 발암성, 번식독성, 기형독성을 평가하였으며, 각 시험에 대하여 시험기간 중

Table 1. Reviewed data on ADI establishment of Isotianil

Chemicals	Test study	Experimental animal	Exposure route
Isotianil	Acute Oral toxicity	Rats	Oral
	Acute Dermal Toxicity	Rats	Dermal
	Acute Inhalation Toxicity	Rats	Inhalation
	Acute Dermal Irritation	Rabbits	Dermal
	Acute Eye Irritation	Rabbits	Eye
	Skin Sensitization (Maximization Test)	Guinea Pigs	Interdermal
	Subchrinic Toxicity	Rats (13 Weeks)	Diet
		Beagle Dogs (13 Weeks)	Diet
		Mice (28 Days)	Diet
	12 Months Chonic Toxicity	Beagle Dogs	Diet
		Rats	Diet
	Carcinogenicity	Rats (24 Months)	Diet
		Mice (18 Months)	Diet
	Reproduction Toxicity	Rats	Diet
	Prenatal Development Toxicity	Rats	Oral
		Rabbits	Oral
	Genotoxicity (AMES test)	S. typhimurium	*in vitro*
	Genotoxicity	CHO cells	*in vitro*
	Genotoxicity (Micronucleus test)	Mice	*in vivo*

사망 또는 도살된 동물의 수, 시간 및 독성의 징후, 사료 및 체중에 관한 자료, 실험동물의 성별 및 용량군별 독성반응성적표, 혈액학적 분석자료, 혈액생화학적 자료, 뇨분석 자료, 부검소견 및 조직병리학적 자료 등을 검토하여 최대무작용량을 설정하였다.

일일섭취허용량설정

농약의 일일섭취허용량은 각각의 독성시험에서 산출된 최대무작용량 중 가장 낮은 수치를 정하고 여기에 안전계수로 나누어 구하였다. 안전계수는 농약의 등록기준에 따라 종간 불확실성과 개체 간 감수성차이를 각각 10으로 설정하였다.

결과 및 고찰

동물체내대사시험평가

Isothiazole label, phenyl label로 방사능이 표식된 [^{14}C]S-2310을 각각 랫드(Wistar) 암·수 각 4마리에 대하여 4 mg/kg bw 및 200 mg/kg bw농도로 1회 경구 투여해 약물동태시험을 검토하였고 혈장 중 방사능 농도 변화는 Table 2에 나타내었다(Gupta et al., 2006).

4 mg/kg bw isothiazole label의 혈장 중 방사능의 최고농도 도달시간(T_{max})은 암·수 각각 0.3과 0.6시간이었고, phenyl label은 1.7과 0.4시간이었고, 최고농도(C_{max})는 isothiazole label 0.20~0.36 μg/g이었다. 소실반감기($T_{1/2}$)는 13.9~17.8시간으로 label에 따른 차이는 없었다.

200 mg/kg bw T_{max}는 isothiazole label은 암·수 각 0.9와 3.3시간 phenyl label은 10과 3.3시간으로 암컷의 경우 label에 의한 차이가 나타났다. C_{max}는 2.57~4.17 μg/g, $T_{1/2}$는 17.9~20.5시간으로 label에 따른 차이는 없었다.

Isothiazole과 phenyl기에 방사능이 표식된 [^{14}C]S-2310에 대하여 각각 0.25, 12 및 48시간 랫드(Wistar) 암·수 각 3마리씩과 168시간 암·수 각 4마리에 4 mg/kg bw와 200 mg/kg bw으로 1회 경구 투여하여 배설 및 분포시험이 실시되었다.

각각 방사능 표지된 [^{14}C]S-2310 투여 168시간 후의 변, 소변 및 조직 등에 대한 회수율은 Table 3에 나타내었다(Gupta et al., 2006).

Isothiazole label S-2310은 200 mg/kg bw에서 변을 통

Table 2. Summary of toxicokinetic parameters following administration of isothiazole and Phenyl label

Parameter	Isothiazole				Phenyl			
	4 mg/kg bw		200 mg/kg bw		4 mg/kg bw		200 mg/kg bw	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
T_{max}[a)] (h)	0.6	0.3	3.3	0.9	0.4	1.7	3.3	10.6
C_{max}[b)] (μg/g)	0.28	0.36	2.57	4.17	0.20	0.26	3.50	3.57
$T_{1/2}$[c)] (h)	13.9	14.5	17.9	18.6	15.8	17.8	18.2	20.5

a) T_{max} : Time to maximum plasma time
b) C_{max} : The maximum plasma concentration
c) $T_{1/2}$: Elimination half-life

Table 3. Recovery of radioactivity in excreta over 168 h after administration of a single oral of isothiazole label, phenyl label [^{14}C]S-2310

Matrix	Recovery of radioactivity (%)							
	Isothiazole				Phenyl			
	4 mg/kg bw		200 mg/kg bw		4 mg/kg bw		200 mg/kg bw	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
Urine	31.64	30.12	12.21	11.38	27.23	25.69	9.04	8.94
Cage wash	3.84	3.88	1.97	2.27	4.30	4.38	1.00	1.42
Feces	57.20	58.90	82.17	80.63	63.76	66.47	86.75	88.17
Tissues	0.11	0.12	0.15	0.12	0.09	0.11	0.08	0.05
Residual carcass	0.34	0.09	0.05	0.04	0.11	0.07	0.03	0.03
Total	93.12	93.10	96.55	94.44	95.49	96.71	96.89	98.60

한 배출은 81.4%이고, 소변 11.8%였으며, 4 mg/kg bw에서는 대변 58.1%와 소변 30.9%가 배출되었다.

Phenyl label S-2310는 200 mg/kg bw에서 변을 통한 배출은 평균 87.5%이었고, 소변 9.0%였으며, 4 mg/kg bw에서는 변 68.5%와 소변은 26.5%가 배출되었다.

Isothiazole label 및 phenyl label된 [^{14}C]S-2310의 모든 투여군에 있어 투여 168시간 후 방사능의 전체 회수율은 93.1% 이상이었으며, 48시간 이내에 90%이상이 배출되었다. 또한 위장과 간 등에 잔존한 방사능은 각 조직별로 0.1% 이하를 나타내었다. 배설경로에 있어서 성별간의 차이는 없었으며, 투여약량에 따라 변은 저용량에 비해 고농도에서, 소변은 고농도에 비해 저용량에서 회수율이 더 높게 나타났으나, 주된 배출경로는 변과 소변으로 약량, 성별 및 표시 위치의 차이에 의한 배설패턴의 차이는 인정되지 않았다.

경구 투여 후에 isotianil은 빠르게 대사되어 많은 대사물질(biotransformation products)이 생성되었고, 투여량에 따른 대사물 함량 비율은 Table 4에 대사경로는 Fig. 1에 나타내었다(Gupta et al., 2006). Isothiazole label과 phenyl label의 경우 변에서는 성별 간 차이 없이 모화합물이 4 mg/kg bw에서 20%이상과 29%이상, 200 mg/kg bw에서는 70%이상과 79%이상이 배설되었으며, 뇨에서는 1차 대사물(metabolic transformation)로 주로 나타났다. Isothiazole label에서는

Table 4. Percentage Recovery of administered Dose

	Metabolite	Percentage Recovery of administered Dose			
		Isothiazole		Phenyl	
		4 mg/kg bw	200 mg/kg bw	4 mg/kg bw	200 mg/kg bw
Feces	S-2310	> 20	> 70	> 29	> 76
	4-OH-S-2310 4,5-OH-S-2310 OH-S-2310	5.28[a]-8.63[b]	-	3.17-8.09	-
	Unknown	< 3	0	< 7	< 3
Urine	DCIT-acide	7-8	3.84	-	-
	Sulfate 2-amino-5-hydroxy benzonitrile	-	-	5	1.46-2.32
	Glucuronide OH-S-2310	5.00-5.97	-	4,41-5.05	-
	4-OH-S-2310		< 3.84	<4	1.57-1.80
	4,5-OH-S-2310	2.29-3.68		<4	-
	Unknown	< 10	< 4	> 10	< 5

a) male
b) female

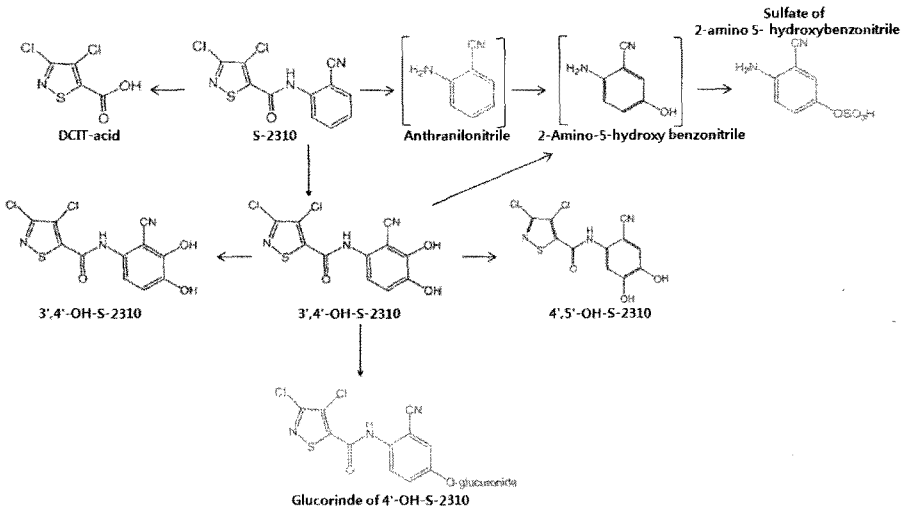

Fig. 1. Metabolism of isotianil in rat.

DCIT-acid가 주요대사물이었고, phenyl label에서는 sulfate 2-amino-5-hydroxy benzonitrile이 주요 대사물로 나타났으며, 성별 및 약량 간 차이점은 없었다.

Isothiazole와 phenyl기에 각각 방사능 표식 된 [^{14}C]S-2310 4 mg/kg bw을 랫드(Wistar) 암·수 각 4마리씩 각각 일회 투여하여 담즙, 뇨 및 변을 조사하였다(Mikata, 2006).

Isothiazole label은 암·수 랫드에서 각각 56.1~46.2%와 phenyl label은 63.8~54.9%가 투여 2일 이내에 담즙을 통해 배설되었으며, 담즙배설은 1차 대사물질들이 글루크로니드화(glucuronidation)하거나 hydroxylated 대사물로 되어 주로 2차 대사물질 형태로 이루어졌다. 뇨 변에서는 배설 및 분포시험과 같이 뇨에서는 DCIT-aicd 및 sulfate 2-amino-5hydroxybenzaonitrile과 4-OH-S-2310이 주요 대사물이었으며 변은 모화합물 S-2310으로 대부분 배출되었다.

급성독성평가

Isotianil 및 대사물질인 DCIT-acid와 Anthranilonitrile에 대한 급성경구독성시험은 OECD TG 423으로 수행되었다(Schüngel, 2005; Deguchi, 2006a; 2006b). 랫드에 대한 독성은 GHS(Globally Harmonized classification System) 'catagory 5' 미분류로 분류되었으며, LD_{50} cut-off 값은 5,000 mg/kg bw이상으로 독성이 매우 낮은 물질이었다. 대사물 DCIT-acid의 랫드에 대한 급성경구독성은 GHS 'catagory 4'로 분류되었고, LD_{50} cut-off 값은 500 mg/kg bw이었다.

Anthranilonitrile은 식물체 대사물로서 랫드에 대한 급성경구독성은 GHS 'catagory 4'로 분류되며, LD_{50} cut-off 값은 1,000 mg/kg bw이었다.

Isotianil의 랫드에 대한 급성경피독성 LD_{50}은 2,000 mg/kg bw이상으로 나타나 독성이 낮은 물질로 나타났다(Ose, 2006).

Isotianil에 대한 에어졸 입자를 통한 호흡시험(Respirable aerosol particles)에서 특이한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 4시간 노출의 흡입독성(inhalation toxicity) LC_{50}은 5,000 mg/m^{3}이상으로 나타났다(Deguchi, 2007).

토끼의 피부와 안구에 대해서는 비자극성(not an irritant)이었다(Nakamura, 2005a; 2005b). Guinea pig의 Maximization Test 시험결과 50%에서 'grade 1'의 피부감작성을 나타내어 약한 피부감작성이 있는 것으로 나타났다(Vohr, 2005).

유전독성평가

Isotianil의 유전독성시험은 세균을 이용한 복귀돌연변이 시험과 포유동물세포를 이용한 *in vitro*, 염색체손상 시험 및 마우스를 이용한 소핵시험을 실시하였다. 시험결과 유전물질에 대한 독성은 없는 것으로 평가되었다(Wirnitzer, 2005; Thum, 2005).

In vivo 시험인 마우스 소핵시험을 0, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg bw에서 수행한 결과 염색체 절단에 의한 소핵을 형성하지 않는 물질로 평가되어 유전자나 염색체에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되었다(Kitamoto, 2006a).

또한 대사물인 DCIT와 anthranilonitrile에 대하여 세균을 이용한 복귀돌연변이시험을 실시한 결과 유전물질에 대한 독성은 없는 것으로 평가되었다(Kitamoto, 2006b; Odawara, 2006).

단기독성평가

랫드를 이용한 90일 반복투여 경구독성

Isotianil에 대한 랫드(Wistar)를 이용한 90일 반복투여경구독성시험을 0, 20, 500, 2,500 및 20,000 ppm(수컷: 0, 1.18, 29.7, 148 및 1,238, 암컷: 1.39, 35.1, 178 및 1,398 mg/kg bw/day)를 투여한 결과, 20,000와 2,500 ppm 암·수에서 total cholesterol에서 유의성 있는 증가를 보였고, 수컷에서는 potassium 증가하였으며, 암·수 간의 상대무게에서 유의성 있는 증가를 보였다. 본 시험의 NOAEL은 500 ppm(수컷: 29.7, 암컷: 35.1 mg/kg/day)이었다(Kuwahara, 2007a).

개를 이용한 90일 반복투여 경구독성

비글 개를 이용하여 0, 500, 2,000 및 8,000 ppm(수컷: 0, 12.2, 51.1 및 200, 암컷: 13.4, 54.4 및 211 mg/kg bw/day) 농도로 90일 반복경구투여시험한 결과, 8,000 ppm에서 간기능 효소인 ALP, AST, ALT(alanine aminotransferase) 및 GGTP 활성을 증가시키고, 암컷에서는 total cholesterol의 활성을 증가시켰으며, 간의 절대 및 상대중량이 증가하였다. 이러한 결과는 병리학적 검사에서 간세포비대로 나타났다. 2,000 ppm 암·수에서 13주에 ALT 활성이 증가하였으며, 수컷 고환에서 atrophy/hypoplasia of seminiferous 관찰되어 본 시험의 NOAEL은 500 ppm(수컷: 12.2, 암컷: 13.4 mg/kg bw/day)이었다(Enomoto, 2007).

랫드를 이용한 4주 반복투여 경피독성

Isotianil에 대한 4주 반복투여경피독성시험에서 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg bw/day을 투여한 결과 성별 및 투여약량별 이상증상은 관찰되지않아 본 시험의 NOAEL은 1,000 mg/kg bw/day이었다(Eigenberg, 2009).

장기독성평가

랫드를 이용한 12개월 경구독성

랫드 만성독성시험을 0, 60, 600, 6,000 및 20,000 ppm (수컷: 0, 2.83, 27.9, 291 및 979, 암컷: 0, 3.70, 37.3, 381 및 1,254 mg/kg bw/day)농도로 투여한 결과 20,000 ppm 암컷 52주째 평균체중 및 누적체중증가량이 대조군의 각각 91%와 86%로 감소하였다. 수컷에서 APTT, 호산구, creatinine 감소하였고, 암·수 GGTP, total cholesterol증가하였으며, 암컷 glucose 감소 등 혈액 및 혈액생화학적변화가 나타났고, 뇨검사에서 암·수에서 needle-like crystal이 관찰되었다. 암·수에서 간 상대 및 절대중량이 증가하였고, 수컷은 폐 bronchiolization와 전위 점막상피세포과형성, 간세포과형성 및 신장에서 luminal dilatation, tubular basophilic change을 나타냈고, 암컷은 전위 점막상피세포과형성이 유의성있는 증가를 보였다.

6,000 ppm는 암·수 뇨에서 needle-like crystal이 관찰되었으며, 6,000과 600 ppm 암·수 total cholesterol 증가 및 간의 상대무게가 증가하였다. 이상의 결과로 본시험의 NOAEL은 60 ppm(수컷: 2.83, 암컷: 3.70 mg/kg bw/day)이었다 (Kuwahara, 2007b).

개를 이용한 12개월 경구독성

개를 이용한 12개월 만성독성시험을 0, 200, 1,000 및 5,000/3,000 ppm(수컷: 0, 5.22, 27.2 및 107, 암컷: 0, 5.33, 26.9 및 110 mg/kg bw/day)농도로 투여한 결과, 5,000 ppm에서 약제투여에 의한 영향이 지속적으로 관찰되어 30-31주 사이에 3,000 ppm 농도로 수정하였다. 5,000/3,000 ppm 암컷에서 emaciation, 운동성감소와 사료구토, 거품 형태구토 증세가 유발되었고, 암·수 백혈구수, monocyte 및 neutrophil이 증가하였다. 암·수 AST, ALT, GGTP, TP, total cholesterol, TG 및 TB 증가, creatinine과 BUN이 감소하였으며, 간, 신장, 비장의 절대 및 상대무게 증가, 간세포비대, 담즙관확대가 관찰되었다. 신장은 갈변 및 세포과형성이 관찰되었다. 1,000 ppm에서 수컷 PLT 증가, 암·수 ALP, GGTP 및 total cholesterol 증가하였다. 수컷 간과 암컷 비장의 절대 및 상대무게 증가하였고, 수컷 간 비대 및 담즙관확대가 관찰되었다. 위의 결과를 근거로 본시험의 NOAEL은 암컷에서 200 ppm (수컷: 5.22, 암컷: 5.33 mg/kg bw/day)이었다(Yoshida, 2007).

번식독성 및 기형독성평가

랫드를 이용한 2세대 번식독성

2세대 번식독성시험은 랫드(Wistar)에 0, 50, 1,000 및 10,000 ppm(부모세대 수컷: 0, 2.97, 59.7 및 590, 암컷: 0, 4.87, 97.6 및 976 mg/kg bw/day, 1세대 수컷: 0, 3.42, 68.2 및 695, 암컷: 0, 5.13, 103 및 1,027 mg/kg bw/day)을 투여하여 실험한 결과는 Table 5에 나타내었다. 10,000과 1,000 ppm 모체 1세대에서 교미 전 약제 투여기간 및 임신기간 동안 체중이 감소하였고, 모체 부모세대 및 1세대 암·수 간 상대 및 절대무게 증가와 수컷 신장 절대무게가 증가하였다.

Table 5. Summary of reproduction index for 2-generation study on rat

Generation	Dose (ppm)	Fertility[c] (%)	Gestation[d] (%)	Duration of gestation (days)	No. of implantation (No.)	No. of pups (No.)	Sex ration[e] (M/F)
P[a]	0	100.0	100.0	22.3±0.5	12.4±2.4	11.6±2.3	0.464
	50	95.8	100.0	22.3±0.5	12.8±1.9	12.0±1.7	0.455
	1,000	95.7	100.0	22.2±0.4	12.3±2.2	11.4±2.3	0.514
	10,000	95.8	100.0	22.3±0.4	13.3±1.4	12.3±1.4	0.514
F1[b]	0	95.8	100.0	22.1±0.3	12.1±1.9	11.5±2.3	0.464
	50	95.8	95.7	22.2±0.4	12.7±3.7	12.5±2.4	0.514
	1,000	95.8	100.0	22.0±0.2	13.3±2.5	12.7±2.6	0.522
	10,000	83.3	100.0	22.3±0.4	12.9±2.8	12.0±3.0	0.500

Number of animals examined : rats of both sexes, 24/sexes/group
Values are presented as mean±SD
a) Parents
b) Filial
c) Fertility : [no. of pregnancies / no. of females] × 100
d) Gestation : [no. of normal parturitions / no. of pregnancies] × 100
e) Sex ration : [total no. of male pups / total no. of pups delivered]

10,000 ppm 태자 1세대 및 2세대 암·수 평균체중이 감소하였고, 암·수 뇌 절대무게 증가, 흉선 상대 및 절대무게 감소 등의 증상이 있었다. 1,000 ppm 1세대 및 2세대 암·수 21째의 평균체중이 감소하였고, 2세대 수컷 흉선 상대 및 절대무게 감소하였다. 10,000과 1,000 ppm에서 모체 및 태자에서 명확한 systemic 독성 증상이 관찰되었다. 본 시험의 모체 및 태자(1세대 모체/2세대 태자)에 대한 NOAEL은 50 ppm(2.97 mg/kg bw/day)이였고, 모든 농도에서 임신율, 출산율, 임신기간 태자수 등에서 번식독성은 관찰되지 않았으므로, 번식독성 NOAEL은 10,000 ppm(590 mg/kg bw/day)으로 추정되었다(Aoyama, 2007).

랫드를 이용한 기형독성

랫드 기형독성시험은 임신한 랫드(Wister) 29마리에 대해 임신 6일에서 19일간 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg bw/day 농도로 시험한 결과, 모든 약량에서 모체에 대한 독성증상은 관찰되지 않았으며, 수정율, 임신율 및 임신수도 대조군과 차이가 없었다. 임신수, 출산모체수, 출산태자수, 태반무게, 태자무게 및 기형태자수도 대조군과 차이가 없었다. 태자발달 관찰에서도 모든 농도에서 대조군과 차이가 관찰되지 않았다. 기형독성 및 태자발달이상이 관찰되지 않았으므로 본시험의 NOAEL은 어미, 배아 및 태아에 대하여 1,000 mg/kg bw/day로 판단되었다(Frank, 2007).

토끼를 이용한 기형독성

토끼를 이용한 기형독성 시험을 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg bw/day를 처리하여 수행하였다. 1,000 mg/kg bw/day 처리군에서는 사료섭취량 감소가 관찰되었고, 모체 1마리는 흡수, 3마리는 24일째 유산되었고, 간이 핏기가 없고 비대가 관찰되었다. 태자 무게 및 태반 무게에서 유의성 있는 감소를 나타내었다. 모든 농도에서 supernumerary rib이 유의성 있는 증가를 나타내었으나 historical control 자료를 근거하여 시험물질에 의한 영향은 없는 것으로 판단되었다. 따라서 본시험의 systemic NOAEL은 300 mg/kg bw/day였고, 기형독성 NOAEL은 1,000 mg/kg bw/day로 추정되었다(Muenks, 2007).

발암성평가

랫드를 이용한 24개월 발암성

랫드를 이용하여 0, 2,000, 6,000 및 20,000 ppm(수컷: 0, 79.2, 242 및 823, 암컷: 0, 105, 311 및 1,052 mg/kg bw/day)을 투여하여 24개월간 발암성시험을 수행한 결과는 Table 6에 나타내었다. 20,000 ppm수컷에서 백혈구, 호중구, 호산구와 고환 및 부고환의 절대무게가 증가하였으며, 암·수에서 간, 갑상선의 상대 및 절대무게가 증가하였고, 폐 bronchiolization, 간세포비대, 전위 점막상피세포과형성 및 간 호산성간세포변성병소가 증가하였다. 6,000 ppm 수컷은 고환 및 부고환의 절대무게가 증가하였고, 암·수에서 간, 갑상선의 상대 및 절

Table 6. Incidence of eosinophilic and basophilic of hepatocellular alteration in males

Dose(ppm)	Eosinophilic	Basophilic
0	3/51[a)]	29/51
2,000	18/51**	7/51**
6,000	17/51**	5/51**
20,000	13/51**	9/51**

**($p \leq 0.01$); Significantly different from 0 ppm diet. by Fisher's exact probability test.

a) Number of animals examined

Table 7. Incidence of liver neoplasia in main group

Dose (ppm)	Incidence of liver neoplasia			
	Male		Female	
	Adenoma[a)]	Carcinoma[b)]	Adenoma	Carcinoma
0	16/56[c)]	1/56	1/56	0/56
70	13/38[d)]	2/38	2/25	1/25
700	18/37	5/37	3/25	0/18
7,000	24/56	1/56	4/56	1/56

a) benign neoplasm

b) malignant neoplasm

c) Number of animals examined at the site

d) Examined on the animals that showed macroscopic lesions at terminal kill and on all that animals killed in extremis or found dead during the study. Not subjected to statistical analysis.

대무게 증가와 전위세포과형성 및 간 호산성세포변성병소가 증가하였다. 2,000 ppm 암·수 전위에서는 점막상피세포과형성 및 간 호산성세포변성병소가 증가하였다. 이 시험에서의 발암성은 없었으며, NOAEL은 2,000 ppm(수컷: 79.2, 암컷: 102 mg/kg bw/day)으로 추정되었다(Kuwahara, 2007c).

마우스를 이용한 발암성

마우스를 이용한 발암성시험을 0, 70, 700 및 7,000 ppm (수컷: 0, 6.89, 71.5 및 706, 암컷: 0, 6.66, 67.2 및 667 mg/kg bw/day)을 투여하여 시험한 결과는 Table 7에 나타내었다. 7,000 ppm 52주에 암·수 neutrophilic, eosinophilic 수가 증가하였으나 78주는 회복되었다. 7,000 ppm투여군 수컷 52주에서 수컷 간 상대무게 증가하였으나, 78주에는 대조군과 차이가 없었다. 암컷의 경우 78주에 간의 절대무게가 증가하였으나 유의성은 없었다. 모든 투여군의 간에서 관찰된 선종과 암은 대조군과의 유의성이 인정되지 않았다. 따라서 본시험 결과 발암성은 유발되지 않았으며, NOAEL은 7,000 ppm(수컷: 706, 암컷: 667 mg/kg bw/day)으로 판단된다(Nakashima, 2007).

아이소티아닐의 ADI 설정

일일섭취허용량을 설정하기 위하여 평가한 독성성적서를 검토한 결과 랫드를 이용한 12개월 만성독성시험의 최대무작용량이 2.83 mg/kg bw/day로 가장 민감하였다. 따라서 랫드를 이용한 12개월 만성독성시험 최대무작용량인 2.83 mg/kg bw/day를 isotianil의 최대무작용량으로 설정하였다.

안전계수를 정하기 위해 독성성적서를 검토한 결과 번식 및 기형독성에서 모체독성은 관찰되었으나 번식 및 기형독성에 대한 영향은 없었으며, 유전독성이 음성이었고, 랫드 만성독성/발암성시험 및 마우스 발암성시험 고농도에서 갑상선여포세포선종 및 간세포선종은 분명한 역치가 존재하여 물질자체의 특성에 의한 것보다는 고농도 장기간 노출에 의한 간장효소 유도에 대한 영향으로 판단되었다. 따라서 일일섭취허용량설정을 위한 안전계수는 동물시험성적을 인체에 외삽하는데 필요한 안전계수 ×10와 개체간의 감수성 차이를 감안한 안전계수 ×10을 두어 100이 합리적인 것으로 판단되었다.

따라서, 가장 낮은 최대무작용량인 랫드를 이용한 12개월 만성독성시험은 2.83 mg/kg bw/day에 안전계수 100을 적용하여 일일섭취허용량을 0.028 mg/kg bw/day로 설정하였다. 이상의 검토결과를 근거로 설정된 국내 신규농약원제 아이소티아닐의 ADI 0.028 mg/kg bw/day은 국립농업과학원의 제7차 농약일일섭취허용량 설정 전문가협의회(2009. 8. 24) 및 제3차 농약전문위원회를 거쳐 설정되었으며, 국민의 건강보호를 위하여 소비자 위해성 평가와 작물별 잔류허용기준을 설정하는 근거로 활용될 것이다.

감사의 글

본문의 독성성적서는 (주)바이엘크롭사이언스에서 원제등록을 위하여 제출한 자료이며, 본 논문을 게재하기 위하여 시험성적서 사용에 동의하여 주신 Bayer CropScience AG, Sumitomo Chmical Co., Ltd.와 (주)바이엘크롭사이언스에 감사드립니다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

Aoyama, H. (2007) Reproductive toxicity study in rats. Study No.: ET 04-0062. The Institute of Environmental Toxicology. Japan.

Deguchi, Y. (2006a) Acute oral toxicity study of DCIT-Acid in rats. Study No.: 4040. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.

Deguchi, Y. (2006b) Acute oral toxicity study of anthranilonitrile in rats. Study No.: 4041. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.

Deguchi, Y. (2007) Acute inhalation toxicity study of S-2310 technical in rats. Study No.: 4052. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.

Eigenberg, D. A. (2009) A subacute dermal toxicity in rats. Study No.: 08-S22-MV. Bayer Crop Science LP Toxicology. Germany.

Enomoto, A. (2007) Repeated dose 90-day oral(Dietary) toxicity study in dogs. Study No.: IET 04-0068. The Institute of Environmental Toxicology. Japan.

Frank, W. L. (2007) Developmental toxicity study in rats after oral administration. Study No.: T1062968. Bayer Health Care AG PH-GDD Toxicology. Germany.

Gupta, J. F., Kusum, S., Michael, S. and Savides, C. (2006) Metabolism of[^{14}C]S-2310 in rats. Study No.: 017100-1. Ricerca Biosciences, LLC. Japan.

Kitamoto, S. (2006a) Reverse mutation Co., Ltd. and Bayer Crop Science AG hereby certify that the document entitled. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.

Kitamoto, S. (2006b) Reverse mutation test of anthranilonitrile in bacterial systems. Study No.: 4034. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.

Kuwahara, M. (2007a) Repeated dose 90-day oral toxicity study in rats. Study No.: IET04-0037. The Institute of Environmental

Toxicology. Japan.
Kuwahara, M. (2007b) Repeated dose 1-year oral toxicity study in rats. Study No.: IET 04-0145. The Institute of Environmental Toxicology. Japan.
Kuwahara, M. (2007c) Carcinogenicity study in rats. Study No.: IET 04-0146. The Institute of Environmental Toxicology. Japan.
Mikata, K. (2006) The biliary excretion of S-2310 in the rate. Study No.: 4001. Environmental Health Science Laboratory Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.
Muenks, K. W. (2007) Teratogenicity study in rabbits. Study No.: IET 04-0149. The Institute of Environmental Toxicology. Japan.
Nakamura, Y. (2005a) Primary skin irritation test of S-2310 technical in rabbits. Study No.: 3980. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.
Nakamura, Y. (2005b) Primary eye irritation test of S-2310 technical in rabbits. Study No.: 3979. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.
Odawara, K. (2006) Micronucleus test on S-2310 technical in mice. Study No.: 3985. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.
Nakashima, N. (2007) Carcinogenicity study in mice. Study No.: IET 04-0069. The Institute of Environmental Toxicology. Japan.
Ose, K. (2006) Acute dermal toxicity study of S-2310 technical in rats.Study No.: 3978. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd. Japan.
Schüngel, M. (2005) Acute toxicity in the rat after oral administration. Study No.: T6075482. Bayer Health Care AG PH-R&D Toxicology. Germany.
Thum, M. (2005) In vitro chromosome aberration test with chinese hamster V79 cells. Study No.: T5075193. Bayer Health Care AG PH-R&D Toxicology International. Germany.
Vohr, H.-W. (2005) Study for the skin sensitization effect in guinea pigs(Guinea Pig Maximization Test according to Magnusson and Kligman). Study No.: T4075011. Bayer Health Care AG PH-PD Toxicology International. Germany.
Wirnitzer, U. (2005) Salmonella/ Microsome test plate incorporation and preincubation method. Study No.: T4075192. Bayer Health Care AG PH-R&D-PD Toxicology International. Germany.
Yoshida, T. (2007) Repeated dose 1-year oral(Dietary) toxicity study in dogs. Study No.: IET 04-0147. The Institute of Environmental Toxicology. Japan.
농촌진흥청 농자재관리과. (2009) 농약의 등록기준, 농약관리법령 및 고시·훈령집 (발간등록번호11-1390000-002515-01), pp. 171~178, 농촌진흥청, 대한민국.

살균제 Isotianil의 독성평가와 일일섭취허용량 설정

정미혜* · 홍순성 · 박경훈 · 박재읍 · 홍무기 · 임무혁[1] · 김용범[2] · 한범석[3] · 한증술[4]

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 농자재평가과, [1]식품의약품안전청 식품기준과, [2]한국화학연구원 안전성평가연구소
[3]호서대학교 GLP센터, [4]경북대학교 생태환경보전전공

요 약 살균제 isotianol의 독성을 평가하고 일일섭취허용량을 설정하기 위하여 급성독성시험 등 시험성적서를 검토하였다. Isotianil은 소변과 대변을 통해 빠르게 대사되었다. 급성경구독성은 저독성이었으며 피부자극, 안점막자극성은 없는 것으로 나타났다. 피부감작성은 약한 감작성으로 판단되었으며, 유전독성은 없었다. 랫드와 개 만성독성시험 결과 간의 무게, 혈액학 및 임상생화학적 변화가 관찰되었다. 또한 생식독성과 기형독성에는 영향이 없었다. Isotianil은 12개월 만성독성시험의 최대무작용량이 2.83 mg/kg/ bw/day로 가장 민감하였고, 안전계수 100을 적용하여 일일섭취허용량을 0.028 mg/kg/ bw/day로 설정하였다.

색인어 일일섭취허용량, 살균제, 최대무작용량, 농약, 안전계수